虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕的毒性及作用机理

司树鼎[1,2]，王开运[1,*]，张文成[1]，王　冕[1]，石绪根[1]，栾炳辉[2]
（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安　271018；2. 山东省烟台市农业科学研究院，山东烟台　265500）

摘要：为明确虫酰肼衍生物 0593 对家蚕 *Bombyx mori* 的毒性，本研究采用食下毒叶法测定了虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕的毒性，观察了亚致死浓度下对家蚕生长发育的影响，并测定了虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕幼虫体内保护酶的影响，对虫酰肼 0593 的作用机理进行了初步探索。结果表明：虫酰肼及其衍生物 0593 对 2 龄家蚕 96 h 的 LC_{50} 值分别为 1.2863 和 0.3364 $mg \cdot L^{-1}$，属高毒级药剂；虫酰肼及其衍生物 0593 在亚致死剂量下对家蚕的生长发育有明显的不利性，可使幼虫历期缩短 0.5～2 d；处理组眠期体重、全茧量、蛹重和化蛹率与对照相比均显著降低；对 4 龄幼虫体内多酚氧化酶和几丁质酶也有较明显影响，虫酰肼及其衍生物 0593 处理家蚕，处理后 6 h 对体内多酚氧化酶有明显激活作用，12 h 后表现出显著的抑制作用；虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕体内几丁质酶均有激活作用。0593 对保护酶的影响较虫酰肼明显。结果提示虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕毒性高，对其生长发育和保护酶类均有不利性，不适合在桑园及其周边农田使用。

关键词：家蚕；虫酰肼；虫酰肼衍生物；毒性；保护酶
中图分类号：Q965.8　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2008)11-1157-07

Toxicity and action mechanism of tebufenozide and its derivative 0593 to silkworm (*Bombyx mori*)

SI Shu-Ding[1,2]，WANG Kai-Yun[1,*]，ZHANG Wen-Cheng[1]，WANG Mian[1]，SHI Xu-Gen[1]，LUAN Bing-Hui[2]
(1. College of Plant Protection，Shandong Agriculture University，Tai'an，Shandong 271018，China；2. Yantai Agricultural Science Research Institute，Yantai，Shandong 265500，China)

Abstract: In order to definite the toxicity of tebufenozide derivative 0593 to silkworm *Bombyx mori*，we detected the toxicity of tebufenozide and its derivative 0593 to *B. mori* with food intake method，observed the growth and development of *B. mori* at their respective sublethal concentration，and determined their effects on endogenous protective enzymes in *B. mori* larvae. Based on the experimental results，we primarily discussed the action mechanism of ebufenozide derivative 0593. The results showed that the LC_{50} of tebufenozide and its derivative 0593 to 2nd instar larvae of *B. mori* were 1.2863 $mg \cdot L^{-1}$ and 0.3364 $mg \cdot L^{-1}$ after 96 h exposure，respectively，and both were of high toxicity. At the sublethal dose，the growth and development of *B. mori* had been obviously affected，which could shorten larval period by 0.5～2 d. Compared with control，larval weight during molting stage，whole cocoon weight，pupal weight and pupation rate decreased of the treatments dramatically. The PPO activity in 4th instar larvae of *B. mori* was activated at 6 h after treatment，and then inhibited at 12 h after treatment. Both tebufenozide and its derivative 0593 significantly activated the chitinase activity in 4th instar larvae of *B. mori*. 0593 showed more significant effects on endogenous protective enzymes than tebufenozide. These results indicate that tebufenozide and its derivative 0593 belong to high toxicity grade to *B. mori*，and have adverse effects on its development and endogenous protective enzymes. So they are not suitable to be used in and around mulberry fields.

Key words: *Bombyx mori*；tebufenozide；tebufenozide derivative；toxicity；protective enzymes

---

基金项目：国家“十一五”支撑计划课题(2006BAD08A03)；山东省自然科学基金项目(J2007D43)
作者简介：司树鼎，男，1981 年生，山东聊城人，硕士研究生，主要从事农药毒理学研究，现在山东省烟台市农业科学研究院工作，E-mail：ssd601@163.com
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：kywang@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2008-07-11；接受日期 Accepted：2008-10-09

家蚕 *Bombyx mori* 是我国大规模饲养的经济昆虫，也是我国农药产品登记中列为环境生态评价的非靶标生物之一。长期的人工驯养，使得家蚕对化学农药十分敏感（李玉平等，1998；陈丽萍等，2006）。然而在桑园和农作物交叉种植中，常因使用农药不当或农药漂移而发生家蚕中毒的事件，给我国蚕桑业带来较大影响（鲁兴萌和吴勇军，2000；吴声敢和王强，2003）。

虫酰肼、甲氧虫酰肼、氯虫酰肼和环虫酰肼均是促进鳞翅目幼虫蜕皮的仿生杀虫剂，这类杀虫剂也称蜕皮激素类杀虫剂。该类杀虫剂作用方式独特，可促使鳞翅目害虫提前蜕皮，新表皮不能骨质化和暗化，并使幼虫停止取食，表皮不能正常脱落导致虫体失水、皱缩，乃至死亡，这类药剂抑制蜕皮作用可发生在昆虫自然蜕皮前的任何时间。虫酰肼和甲氧虫酰肼对鳞翅目害虫表现出高度的选择性，对哺乳动物、鸟、鱼类及其他脊椎动物和各种天敌无毒害作用，是害虫综合防治的优选药剂（Smagghe and Degheele，1994）。自这两种药剂进入我国市场后，主要用于防治农作物害虫。朱丽梅等（2002）报道，虫酰肼对玉米螟、小菜蛾 *Plutella xylostella*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 有明显的杀虫效果，对粘虫最为敏感。王培松等（2007）报道了甲氧虫酰肼对苹小卷叶蛾 *Adoxophyes orana* Fischer von Roslerstamm 有很好的防治效果。刘道贵和包克勤（2005）通过防治棉花斜纹夜蛾田间试验证明甲氧虫酰肼的持效期较长，用药 21 d 后防效仍高达 88% 以上，且甲氧虫酰肼选择性强，对作物和天敌安全。蜕皮激素类杀虫剂对鳞翅目害虫有很高的杀虫活性，对非靶标生物安全、环境友好，因此在生产实践中越来越受到人们的重视。

虫酰肼衍生物 0593 是南开大学元素有机化学国家重点实验室创新合成的蜕皮激素类杀虫剂，化学式为 N-甲氧硫基-N′-特丁基-N-4-乙基苯甲酰基-N′-3，5-二甲基苯甲酰肼（N-methoxysulfenyl-N′-tert-butyl-N-4-ethylbenzoyl-N′-3，5-dimethylbenzoylhydrazide，Ⅲf）。该衍生物极性低，熔点下降，分子之间的作用力减少，脂溶性增加，有利于分子穿透昆虫蜡质层，对害虫的触杀毒力提高。崔全敏等（2008）研究证明，虫酰肼衍生物 0593 对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*（Hübner）等 5 种鳞翅目幼虫的毒力均显著大于虫酰肼，且触杀作用更强。

本研究根据国家环保局颁布的化学农药环境安全评价的要求，采用食下毒叶法，测定了虫酰肼及虫酰肼衍生物 0593 对家蚕的毒性，同时测定了在亚致死浓度下进行了对家蚕生长发育影响，对这两种农药对家蚕的致毒效应进行了系统评价，旨在为评价蜕皮激素类杀虫剂的生态环境风险提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试家蚕

品种为鲁七×9202，购于山东青州广通蚕业集团有限公司。

1.2 试验条件

恒温养虫室，温度 25±1℃，相对湿度 75%～90%。

1.3 供试药剂

虫酰肼（tebufenozide，20% SC），美国陶氏益农生物技术有限公司。

虫酰肼衍生物 0593（tebufenozide derivative 0593），由南开大学元素有机化学研究所提供 99.9% 原粉，本实验室配制 1% EC 待用。

1.4 试验方法

1.4.1 虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕的毒力测定：采用食下毒叶法，在预试明确药剂有效浓度范围的基础上，将药剂用水稀释成 5～7 个系列浓度，从桑树上采集第 2，3 片健壮的叶片，擦干净叶面上的尘土等杂物，用不同浓度的药液定量浸渍桑叶，以 5 mL 药液浸渍 5 g 桑叶，使桑叶浸药均匀，原则是尽量使药液均匀浸在桑叶上，浸叶时间应控制为 10 s。浸药后将桑叶在通风处风干并将叶片剪成细丝状，大小约 0.5 cm^2 供家蚕食用。将药剂处理的桑叶放入 15 cm 培养皿内，每皿接入 20 头家蚕幼虫（2 龄第 2 d），重复 3 次共计 60 头。以清水浸桑叶为空白对照组。处理后的试虫置于 26℃ 恒温养虫室内连续食毒叶 96 h，于 24 h，48 h 和 96 h 检查死、活虫数，并连续观察记录存活个体中毒症状。对照组死亡率小于 10% 的试验为有效试验，采用 Abbott 公式计算校正死亡率，并按机率值分析法用 POLO 统计分析软件进行数据处理，求出各药剂对家蚕的 LC_{50} 值及 95% 置信限。

1.4.2 虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕生长发育影响的试验：采用食下毒叶法，在毒力测定的基础上，设 0.05 和 0.01 $mg \cdot L^{-1}$ 两个处理浓度。从桑树上采集第 2 和第 3 片健壮的叶片，擦干净叶面上的尘土等杂物，将叶片剪成细丝，用不同浓度的药液定量浸渍桑叶，以 5 mL 药液浸渍 5 g 桑叶，凉干供蚕食用。

将药剂处理的桑叶放入 15 cm 培养皿内，每皿接入 20 头 2 龄家蚕幼虫（2 龄第 2 d），重复 3 次。以清水浸桑叶为空白对照组，处理后的试虫置于 26℃恒温养虫室内。处理 4 d 后改喂无毒桑叶，观察存活个体各龄期历期，并在每次眠时称量存活眠蚕的鲜重。整个试验饲养至结茧、化蛹为止，结茧后 1 周称全茧量（即茧重）、茧层量（茧皮重）、蛹重，并计算化蛹率。对照组死亡率小于 10% 的试验为有效试验。当每个处理内有大于 2/3 数量的家蚕进入眠期时称眠蚕体重；上蔟时期以最早上蔟蚕和最后上蔟蚕的时间为依据。所得结果用 POLO 数据分析软件处理。

1.4.3　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕多酚氧化酶的影响：参照冯从经等（2004）等方法并略作修改。取发育一致的 4 龄第 3 d 家蚕幼虫，先饥饿 4～6 h 后待用。配制 2.5，5.0，10.0 和 20.0 mg•L^{-1} 4 个浓度的虫酰肼及其衍生物 0593 药液，毒叶及试虫处理方法同食下毒叶法。按不同时间随机采集对照和存活的处理幼虫 5 头在冰盘上解剖除去中肠，留下表皮置于玻璃匀浆器中，加入预冷的 0.1 mol•L^{-1}、pH 7.0 磷酸缓冲液（PBS）缓冲液，在冰浴条件匀浆，所得匀浆液于 12 000 g 离心 20 min，其上清液即为待测的酶液。取 0.2 mg•L^{-1}邻苯二酚 1.5 mL，0.05 mg•L^{-1}、pH 6.8 PBS 1.5 mL，0.1 mL 酶液于试管中混匀，并于 25℃水浴中振动反应 15 min，于 420 nm 处测定 OD 值，并测定酶液中蛋白质含量。酶活力以 OD•mg^{-1} pro•min^{-1}表示，每处理重复 3 次。以酶活性抑制率表示药剂对酶活力的影响。酶活性抑制率计算公式如下：

$$酶活性抑制率(\%) = \frac{对照组酶活力 - 处理组酶活力}{对照组酶活力} \times 100$$

1.4.4　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕几丁质酶的影响：参照吴刚和尚稚珍（1992）的方法并略作修改。取发育一致的 4 龄第 3 d 家蚕幼虫，用浓度为 100.0 mg•L^{-1}的虫酰肼及其衍生物 0593 药液处理，毒叶及试虫处理方法同食下毒叶法。按不同时间随机采集对照和存活的处理幼虫 3 头在冰盘上解剖除去中肠，经磷酸缓冲液清洗后整体置于预冷的匀浆器中，加入预冷的 0.1 mol•L^{-1} pH 6.8 磷酸缓冲液。冰浴下匀浆，10 000 r•min^{-1}、4℃离心 10 min，用移液枪吸取上清液为待测酶液。取 150 μL 酶液、200 μL 胶体几丁质（0.2%）、200 μL 0.1 mol•L^{-1} pH 6.8 磷酸缓冲液，按上述体系加样，混匀，37℃保温 1 h，100℃沸水浴 5 min，10 000 r•min^{-1}离心 1 min。取上清液 500 μL，加入蜗牛酶 50 μL（0.1 g/mL），37℃保温 1 h，再加入硼酸钾 100 μL，100℃沸水浴 3 min，10 000 r•min^{-1}离心 1 min。取上清液 500 μL，加入 1 mL 对二甲氨基苯甲醛，37℃保温 20 min 后，在半小时内测定 585 nm 处的 OD 值。几丁质酶活性以 OD•mg^{-1}•pro 值表示。

2　结果与分析

2.1　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 2 龄幼虫的毒力

虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 2 龄幼虫的毒性结果如表 1 所示。2 种药剂 24 h 的 LC_{50} 值均大于 200 mg•L^{-1}，即用 200 mg•L^{-1}的剂量处理，家蚕无死亡现象；但取食随浓度的提高而减少。处理后 48 h 时，开始出现死亡现象，中毒的家蚕均表现出药剂浓度和家蚕虫体大小呈负相关性，部分个体头壳开裂且不能蜕皮，阻碍新的原表皮或内表皮层的合成。处理后 96 h 后，虫酰肼和虫酰肼衍生物 0593 的 LC_{50} 分别为 1.2863 mg•L^{-1}和 0.33640 mg•L^{-1}，以虫酰肼衍生物 0593 的毒性高，家蚕中毒的症状同 48 h。存活个体比对照显著变小，大部分出现提前蜕皮现象。总之，虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕的毒性表现较为缓慢，至 96 h 表达出较明显的致毒效应，其中虫酰肼衍生物 0593 的 LC_{50} 值小于 0.5 mg•L^{-1}，为剧毒级；虫酰肼的 LC_{50} 值在 0.5～20 mg•L^{-1} 范围内，为高毒级。即该类药剂对家蚕的风险很大，在应用中应远离桑园。

表 1　虫酰肼及 0593 对 2 龄家蚕幼虫的毒性

Table 1　The toxicity of tebufenozide and its derivative 0593 to the 2nd instar larvae of *Bombyx mori*

药剂 Pesticides	LC_{50}（95%FL）（mg•L^{-1}）		
	24 h	48 h	96 h
虫酰肼 Tebufenozide	>200	130.60（78.120－221.40）	1.2863（0.8660－1.8067）
虫酰肼衍生物 0593 Tebufenozide derivative 0593	>200	8.2240（3.080－20.393）	0.3364（0.2024－0.4855）

2.2　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕幼虫生长发育的影响

2.2.1　对家蚕幼虫龄期历期的影响：通过比较两个处理浓度的影响发现浓度越高对试虫龄期历期的

影响就越明显(表 2)。虫酰肼及其衍生物 0593 以 0.05 mg·L^{-1}处理的 2,3 和 4 龄家蚕和以 0.01 mg·L^{-1}处理的 2 龄家蚕均发生提前入眠、提前蜕皮现象,历期平均都比对照缩短 0.5~1 d。虫酰肼及其衍生物 0593 以对 5 龄家蚕的历期影响与对对照相比提前蜕皮现象更明显,使龄期历期缩短天数均大于 1 d。以 0.05 mg·L^{-1}处理的家蚕中毒症状表现明显,取食量明显低于 0.01 mg·L^{-1}处理组和对照组,有些中毒较深者无法正常生长至熟蚕就全部死亡。综合来看,虫酰肼其衍生物 0593 对家蚕生长历期的影响较虫酰肼更明显。

表 2 虫酰肼及 0593 对家蚕幼虫各龄发育历期的影响

Table 2 Effect of tebufenozide and its derivative 0593 on developmental duration of *Bombyx mori* larvae

龄期 Instar	各龄期历期 Developmental duration (d)				
	CK	虫酰肼 Tebufenozide (mg·L^{-1})		0593 (mg·L^{-1})	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2 龄 2nd instar	3	2	2.5	2	2.5
3 龄 3rd instar	3	2.5	3	2	2.5
4 龄 4th instar	6	5	6	5	5.5
5 龄 5th instar	8	6.5	8	6	7

2.2.3 对家蚕体重的影响:眠蚕体重是家蚕生长发育较敏感的指标之一,轻微的外界影响即可造成家蚕体重的变化。虫酰肼及其衍生物 0593 用 0.05,0.01 mg·L^{-1}处理的家蚕在眠期和熟蚕时的体重与对照存在显著的差异,两个药剂之间也存在一定的差别(图 1)。在龄期较低时,虫酰肼处理组对体重的影响比衍生物 0593 要明显一些;随着生长的进行,衍生物 0593 对体重的影响程度相对比虫酰肼要严重。在试验时观察到,家蚕个体之间生长也存在显著性差异,浓度越高的处理组差异越显著,个体发育受阻者身体明显皱缩,厌食,喜静卧,是典型的畸形幼虫,畸形幼虫在成长到 5 龄成为熟蚕后,食量逐渐减少不能化蛹而死亡。

2.2.4 对家蚕全茧重(即茧重)、蛹重和化蛹率的影响:由图 2 可以看出,虫酰肼及其衍生物 0593 处理过的家蚕全茧重、蛹重和化蛹率与对照相比存在显著性差异($P \leqslant 0.05$)。以 0.05 mg·L^{-1}处理的家蚕生长到熟蚕时个体大小与对照相比差异显著,吐丝均极少,有的不结茧,有的熟蚕不化蛹,同时还发现有半虫半蛹状态的畸形蛹且体色发黑,全茧重、蛹重和化蛹率与对照相比差异非常显著,化蛹率也很低。虫酰肼衍生物 0593 以 0.05 mg·L^{-1}处理的家蚕与对照相比提前蜕皮现象更加明显,部分家蚕蜕皮失败致死,幸存的少数幼虫在生长过程中表现出厌食、喜

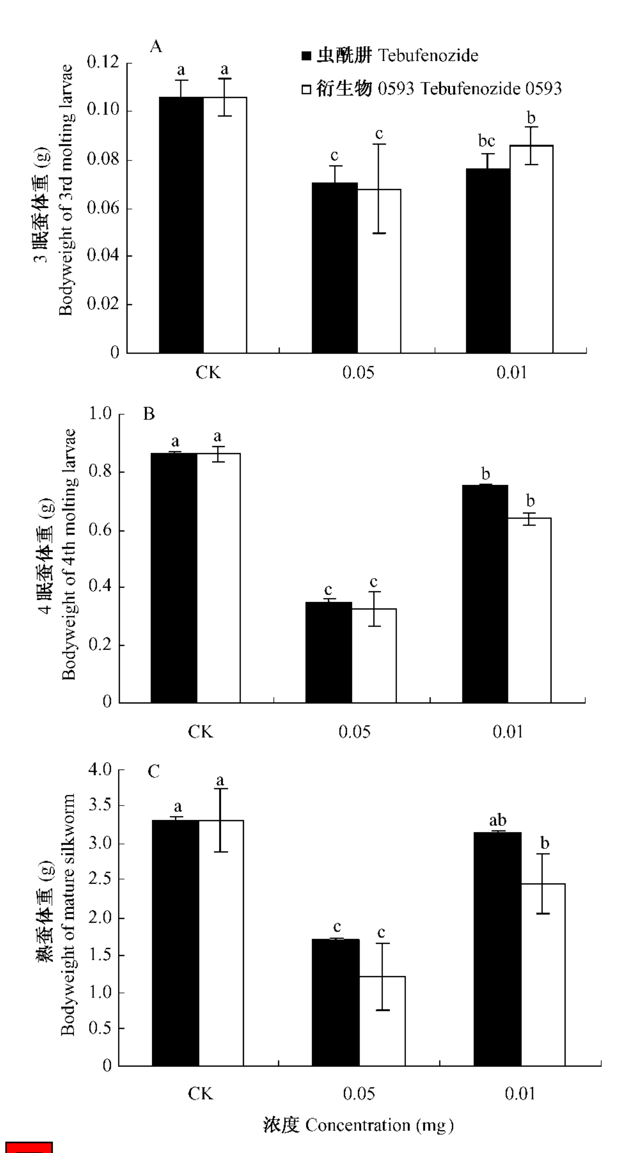


图 1 虫酰肼及其衍生物 0593 不同浓度处理后家蚕的 3 眠蚕(A)、4 眠蚕(B)和熟蚕体重(C)

Fig. 1 Bodyweight of 3rd molting larvae (A), 4th molting larvae (B) and mature silkworm (C) of *Bombyx mori* treated with tebufenozide and its derivative 0593 at different concentrations

图中数据为平均值±标准误;柱上不同小写字母表示在 5%水平上处理与对照差异显著;图 2 同。Data in the figure are mean ± *SE*, different lowercase letters above bars represent significant difference between treatment and control at 5% level. The same for Fig. 2.

静卧等症状,无法正常生长到熟蚕而死亡,化蛹率仅有 18%,并且畸形蛹约占半数。以 0.01 mg·L^{-1}处理的家蚕也有少数熟蚕出现化蛹畸形,茧层很薄,内部蛹体处于半虫半蛹状态,且体色发黑,全茧量、蛹重和化蛹率与对照相比均有显著性差异。

虫酰肼及虫酰肼衍生物 0593 处理家蚕,能够导致存活幼虫生长发育受阻,有些甚至不能生长到熟蚕化蛹就死亡,全茧重、蛹重、化蛹率和正常蛹数均降低,受到很大的影响。所以推测虫酰肼及虫酰肼

衍生物 0593 对家蚕的羽化率、产卵能力以及其对后代的遗传等会产生较大不利影响，这些指标正在进一步的研究中。

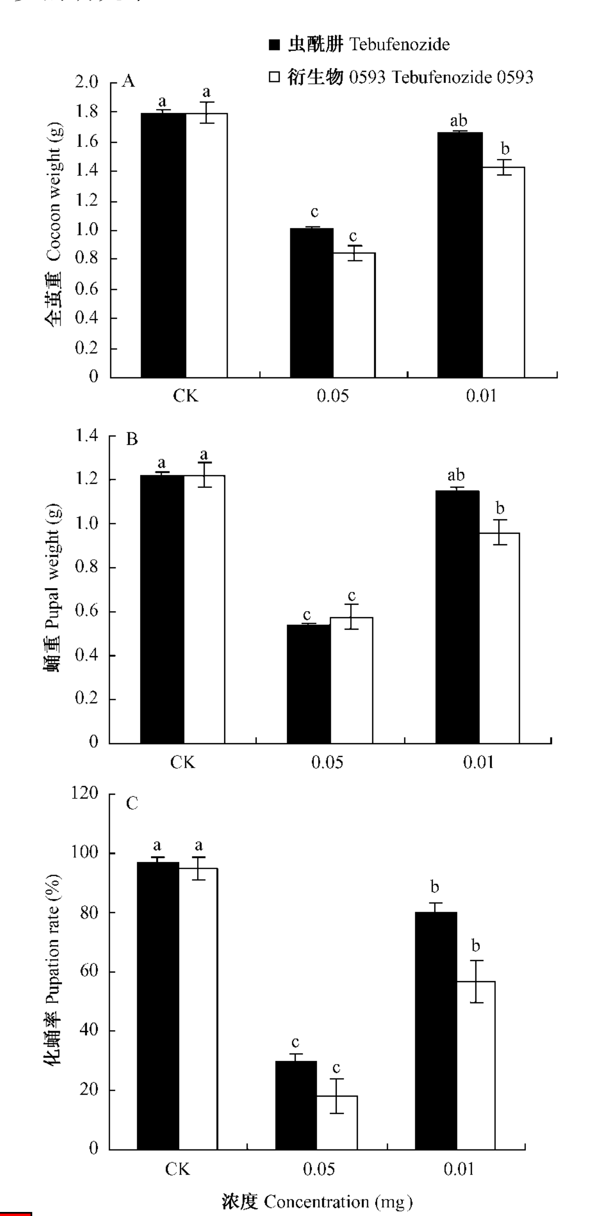


图 2　不同浓度虫酰肼及其衍生物 0593 处理后家蚕的全茧量（A）、蛹重（B）和化蛹率（C）

Fig. 2　Cocoon weight（A），pupal weight（B）and pupation rate（C）of *Bombyx mori* treated with tebufenozide and its derivative 0593 at different concentrations

2.3　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 4 龄幼虫酚氧化酶的影响

虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 4 龄幼虫 PPO 的影响如表 3 和表 4 所示。处理组家蚕体内 PPO 变化与对照相比存在显著差异。处理后 6 h 测定时，两种药剂对 PPO 活性都是起激活作用，虫酰肼 5.0 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组激活倍数值最高，为 2.6 倍（抑制率为 −157.1%）；此时虫酰肼衍生物 0593 是 10.0 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组激活倍数值最高，为 2.2 倍（抑制率为 −118.0%）。12 和 24 h 测定时，PPO 的活性与对照相比有显著的降低，两种药剂对 PPO 活性均表现显著的抑制作用，虫酰肼衍生物 0593 以 20.0 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组的家蚕在 24 h 时抑制率数值最高，为 72.8%。20.0 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组 PPO 活性在各个处理时间均低于其他浓度处理；与其他浓度处理组一样，在处理 6 h 后，PPO 活性高于对照，而在 12 h 后显著低于对照组。单从两种农药对 PPO 的抑制率数值看，虫酰肼衍生物 0593 的影响要比虫酰肼更严重些。

2.4　虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 4 龄幼虫几丁质酶的影响

如表 5 所示，虫酰肼及其衍生物 0593 处理后的家蚕 4 龄幼虫几丁质酶的活性变化。处理后的家蚕几丁质酶的活性与对照相比均有所提高；处理组的家蚕酶活力随着时间的延长酶活力呈现上升趋势。在同一处理时间，虫酰肼衍生物 0593 对几丁质酶的激活倍数要高于虫酰肼。处理组在 12 h 的酶活力高于其他两个时间点。

3　讨论

虫酰肼及其衍生物属于双酰基肼类蜕皮激素抑制剂，是仿昆虫天然蜕皮激素开发而成。目前在世界许多国家广泛应用，多用于防治棉花、蔬菜、果树等作物上的鳞翅目害虫。家蚕为我国重要的经济昆虫，是农药使用时保护的非靶标生物。研究证明，农药对昆虫的毒性并非都表现为急性致死效应，有些是表现在使昆虫取食量减小、生长受阻和繁殖力降低等方面。通过本研究的结果发现，虫酰肼及其衍生物 0593 在低剂量下对家蚕的生长发育有较大不利影响。因此，评价作用机制独特的蜕皮激素类杀虫剂对家蚕的毒性，仅观察 96 h 时的毒性与中毒症状尚欠准确，还应观察对家蚕生长发育的影响情况（马惠等，2005）。

与发达国家相比目前我国农药研发进程较慢，创新品种较少。南开大学元素有机化学国家重点实验室创制的虫酰肼衍生物 0593，不仅杀虫活性高，也为我国新农药的创制提供了新思路。本文研究了该类药剂家蚕的毒力及其致毒效应，发现虫酰肼衍生物 0593 衍生物对家蚕的毒性比虫酰肼高，但中毒症状均和对家蚕生长发育的影响十分相似。是一种

表 3　处理后不同时间虫酰肼对家蚕 4 龄幼虫表皮酚氧化酶活性的影响

able 3　Effect of tebufenozide on polyphenol oxidase activity in 4th instar larvae of *Bombyx mori* in different time after treatment

浓度 Concentration ($mg·L^{-1}$)	6 h		12 h		24 h	
	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-1}$)	抑制率(%) Inhibitory rate	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-}$)	抑制率(%) Inhibitory rate	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-1}$)	抑制率(%) Inhibitory rate
CK	0.56 ± 0.04 d	–	0.91 ± 0.03 a	–	1.14 ± 0.03 a	–
2.5	1.10 ± 0.03 b	−96.4	0.76 ± 0.02 b	16.5	0.90 ± 0.04 c	21.1
5.0	1.44 ± 0.06 a	−157.1	0.62 ± 0.04 c	31.8	0.76 ± 0.11 c	33.3
10.0	1.17 ± 0.06 b	−109.0	0.53 ± 0.07 d	41.7	0.81 ± 0.08 c	29.0
20.0	0.85 ± 0.07 c	−51.7	0.48 ± 0.05 d	47.3	0.66 ± 0.04 d	42.1

表 4　处理后不同时间虫酰肼衍生物 0593 对家蚕 4 龄幼虫表皮酚氧化酶活性的影响

Table 4　Effect of tebufenozide derivative 0593 on polyphenol oxidase activity in 4th instar larvae of *Bombyx mori* in different time after treatment

浓度 Concentration ($mg·L^{-1}$)	6 h		12 h		24 h	
	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-1}$)	抑制率(%) Inhibitory rate	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-1}$)	抑制率(%) Inhibitory rate	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro·min^{-1}$)	抑制率(%) Inhibitory rate
CK	0.56 ± 0.04 d	–	0.91 ± 0.03 a	–	1.14 ± 0.03 a	–
2.5	0.90 ± 0.03 b	−60.7	0.66 ± 0.02 b	27.5	0.81 ± 0.04 b	29.0
5.0	1.10 ± 0.06 a	−96.4	0.52 ± 0.04 c	42.8	0.66 ± 0.11 c	42.1
10.0	1.22 ± 0.06 a	−118.0	0.43 ± 0.07 d	52.7	0.48 ± 0.08 d	57.9
20.0	0.75 ± 0.07 c	−33.9	0.40 ± 0.05 d	55.5	0.31 ± 0.04 e	72.8

表 5　处理后不同时间虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕 4 龄幼虫几丁质酶的影响

Table 5　Effect of tebufenozide and its derivative 0593 on chitinase activity in 4th instar larvae of *Bombyx mori* in different time after treatment

浓度 Concentration ($mg·L^{-1}$)	6 h		12 h		24 h	
	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro$)	比率 Ratio (%)	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro$)	比率 Ratio (%)	活性 Activity ($OD·mg^{-1}pro$)	比率 Ratio (%)
CK	0.24 ± 0.02 c	1.00	0.20 ± 0.02 c	1.00	0.22 ± 0.04 c	1.00
虫酰肼 Tebufenozide	0.26 ± 0.14 b	1.08	0.28 ± 0.09 b	1.40	0.30 ± 0.11 b	1.36
0593	0.29 ± 0.03 a	1.20	0.34 ± 0.05 a	1.70	0.36 ± 0.08 a	1.63

对家蚕具有很大风险性的药剂。

酚氧化酶和几丁质酶是昆虫体内的保护酶。前者广泛存在于昆虫的体壁和血液中，不仅对昆虫体壁形成的硬化和黑化过程中起重要作用，也直接影响昆虫免疫作用（Ashida *et al*., 1990）。虫酰肼及其衍生物 0593 处理后初期对 PPO 活性具诱导作用，而后则转为抑制作用，且随时间延长而抑制率逐渐增大。这种变化正与该酶的防御特性有关。几丁质酶有规律地降解表皮中的几丁质以保证昆虫的正常发育。虫酰肼能够引起昆虫早熟、提前蜕皮等，其机理是作用于蜕皮激素受体，导致几丁质酶合成而过早启动蜕皮（Smagghe and Degheele，1994）。本研究发现，虫酰肼衍生物 0593 对家蚕几丁质酶的影响也与虫酰肼类似，且其影响程度较虫酰肼更大。说明蜕皮激素类药剂干扰昆虫蜕皮过程不仅是打破激素平衡问题，还可能影响到昆虫的防御和代谢。

虫酰肼类杀虫剂是诱导昆虫提前蜕皮的非甾族类化合物，具有和蜕皮激素相似的作用方式，在害虫胚胎发育、幼虫生长和成虫繁殖等各个阶段均可起作用，导致昆虫蜕皮过程无法完全进行。番茄蛾 *Lacanobia oleraceal* 取食了含有虫酰肼或抑食肼的饲料后，会使其致死性早熟蜕皮（Smagghe and Degheele，1994）。Aller 和 Ramsay（1998）研究发现，抑食肼和虫酰肼不仅能杀死鳞翅目、鞘翅目和双翅目靶标害虫的幼虫，还可引起成虫产卵量下降；还有实验证明抑食肼和虫酰肼对欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 有杀卵活性（Trisyono and Chippendale，1997）。本研究又证明虫酰肼和虫酰肼衍生物 0593 可对家蚕血淋巴和表皮持续作用，可使多酚氧化酶和几丁质酶严重失调，从而导致新表皮的结构不完整，干扰其鞣化和黑化过程，使蜕皮半途而废。研究还发现，该类药剂对昆虫的生理影响具有持久性，即使很低

的剂量对其多种生理指标都可以产生影响，导致昆虫种群数量的减少，其作用对害虫的持续治理意义更大。由此说明虫酰肼类化合物的作用机制十分复杂，有待进一步深入研究。

实践证明，虫酰肼类杀虫剂不仅对鳞翅目害虫杀虫毒力高，且与常用杀虫剂无交互抗药性，而且对田间有益动物和非鳞翅目的昆虫天敌比较安全，在我国目前大力提倡害虫可持续治理、保护生态环境和保证农产品安全生产中，会越来越受到重视。崔全敏等（2008）已经证明虫酰肼衍生物 0593 对 5 种鳞翅目幼虫的毒力较虫酰肼更高，触杀作用更强，开发应用价值更大。但是，因虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕具有较高的风险性，建议在使用中远离桑园及养蚕区，以免造成经济损失。

参 考 文 献（References）

Ashida M，kinoshita K，Braey PT，1990. Studies on prophenoloxidase activation in the mosquito *Aedes aegypti* L. *Eur. J. Biochem.*，188：507－515.

Aller HE，Ramsay JR，1988. RH-5849－A novel insect growth regulator with a new mode of action. *Proc. Br. Crop. Prot. Conf.－Pests Dis.*，2：511－518.

Chen LP，Zhao XP，Wu CS，Wu SG，Wang Q，Cang T，Zhang ZH，Gu XH，2006. The toxicity of six pesticides to silkworm and their safety evaluation. *Pesticide Science and Administration*，27(3)：22－24.［陈丽萍，赵学平，吴长生，吴声敢，王强，苍涛，张志恒，顾秀惠，2006. 6 种农药对家蚕的毒性与安全性评价研究. 农药科学与管理，27(3)：22－24］

Cui QM，Wang KY，Wang QM，Zhang WC，Lin J，2008. Bioactivities of two tebufenozide derivatives against five lepidopteran pests. *Acta Entomologica Sinica*，51(5)：492－497.［崔全敏，王开运，汪清民，张文成，林进，2008. 两种虫酰肼类新化合物对五种鳞翅目害虫的生物活性. 昆虫学报，51(5)：492－497］

Feng CJ，Dai HG，Fu WJ，2004. Effect of juvenile hormone analogue and ecdysteroids on the activity of phenoloxidase in larvae of the Asian corn borer，*Ostrinia furnacalis*（Guenée）（Lepidoptera：Pyralidae）. *Acta Entomologica Sinica*，47(5)：562－566.［冯从经，戴华国，符文俊，2004. 保幼激素类似物及蜕皮甾类对亚洲玉米螟幼虫酚氧化酶活性的影响. 昆虫学报，47(5)：562－566］

Li YP，Zhang ZX，Zhong YY，Xiao NK，1998. The toxic symptom and emergency treatment of silkworm to different pesticides. *North Sericulture*，19(4)：25－26.［李玉平，张正新，钟勇玉，肖乃康，1998. 家蚕不同类型农药中毒的症状及急救处理. 北方蚕业，19(4)：25－26］

Liu DG，Bao KQ，2005. The control effect of 24% tebufenozide SC on cotton leafworm（*Spodoptera litura*）. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*，33(10)：1 810.［刘道贵，包克勤，2005. 24%美满悬浮剂控制棉花斜纹夜蛾的效果. 安徽农业科学，33(10)：1 810］

Lu XM，Wu YJ，2000. Toxicity of imidacloprid to silkworm. *Science of Sericulture*，26(2)：81－86.［鲁兴萌，吴勇军，2000. 吡虫啉对家蚕的毒性. 蚕业科学，26(2)：81－86］

Ma H，Jiang H，Tao CJ，Liu L，Wang KY，2005. Toxicity evaluation of twenty-seven pesticides to *Bombyx mori*. *Chinese Journal of Pesticide Science*，7(2)：156－159.［马惠，姜辉，陶传江，刘亮，王开运，2005. 27 种农药对家蚕的毒性评价研究. 农药学学报，7(2)：156－159］

Smagghe G，Degheele D，1994. Action of a novel nonsteroidal ecdysteroid mimic，tebufenozide（RH-5992），on insects of different orders. *Pestic. Sci.*，42：85－92.

Trisyono A，Chippendale M，1997. Effect of the nonsteroidal ecdysone agonists，methoxyfenozide and tebufenozide，on the European corn borer（Lepidoptera：Pyralidae）. *J. Econ. Entomol.*，90：214－221.

Wang PS，Wang JQ，Gong BY，Yang YJ，Wang YZ，2007. The control effect of different insecticides to *Adoxophyes orana* Fischer von Rosleratmm. *Northern Fruits*，2(3)：26－27.［王培松，王继秋，宫本义，杨永杰，王英姿，2007. 不同杀虫剂对苹小卷叶蛾的防治效果. 北方果树，2(3)：26－27］

Wu G，Shang ZZ，1992. Effects of atabron on phenoloxidase and chitinase in the cuticle of *Ostrinia furnacalis* larva. *Acta Entomologica Sinica*，35(3)：306－311.［吴刚，尚稚珍，1992. 抑太保对亚洲玉米螟表皮酚氧化酶及几丁质酶活力的影响. 昆虫学报，35(3)：306－311］

Wu SG，Wang Q，2003. Study on toxicity and safety evaluation of chlorpyrifos and fenpropathrin to silkworm（*Bombyx mori* L.）. *Pesticide Science and Administration*，24(9)：11－14.［吴声敢，王强，2003. 毒死蜱和甲氰菊酯对家蚕毒性与安全评价研究. 农药科学与管理，24(9)：11－14］

Zhu LM，Ni JP，Huang CX，Cao XY，Hou HM，Cui Q，Zeng X，2002. The bioactivity of tebufenoaide on several important Lepidoptera insects. *Pesticide*，41(1)：25－27.［朱丽梅，倪珏萍，黄春霞，曹晓宇，侯华民，崔勤，曾霞，2002. 米满对几种重要鳞翅目害虫室内生物活性的研究. 农药，41(1)：25－27］

（责任编辑：赵利辉）